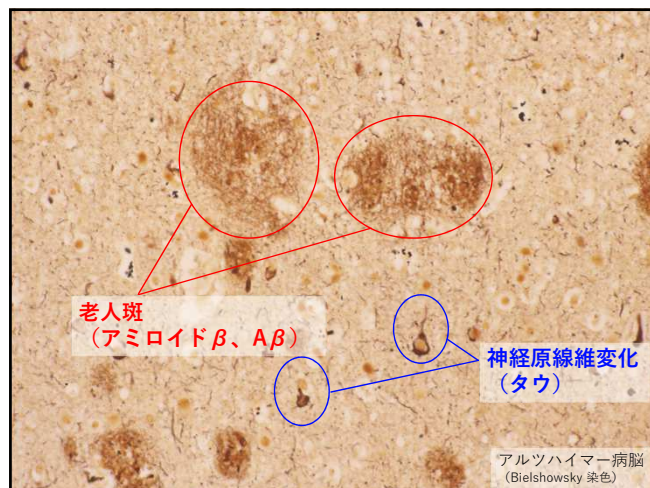


BioJapan
2022.10.12 パシフィコ横浜

副作用のない 新規アルツハイマー病戦略

—基質を標的としたA β 特異的産生抑制ペプチド—

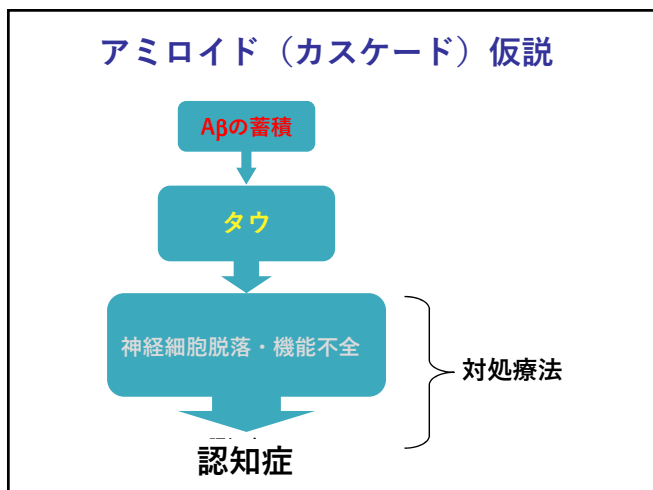
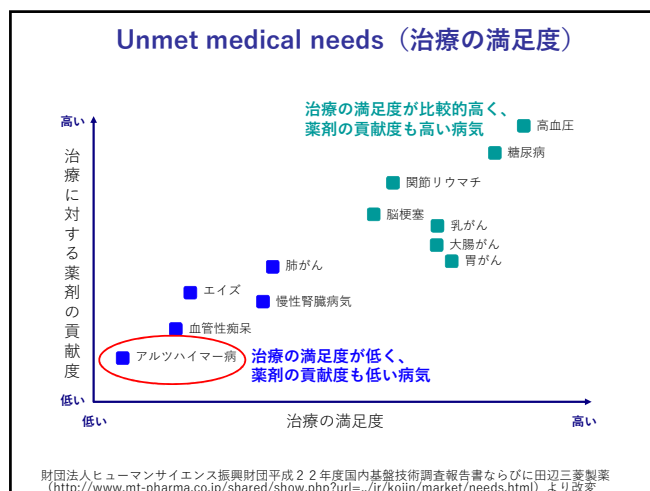
同志社大学・生命医科学部・神経病理学
舟本 聡



アルツハイマー病

- ・ 老人斑 (A β)
- ・ 神経原線維変化 (タウ)
- ・ 神経細胞の脱落

がみられる認知症をアルツハイマー病 (AD) という



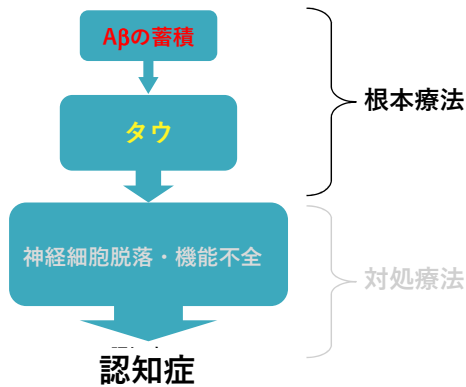
アルツハイマー病治療戦略の現状

対処療法 (国内承認済)

1. アセチルコリンエステラーゼ阻害剤 (ドネベジル、
ガランタミン、リバスチグミン)
2. NMDA受容体拮抗剤 (メマンチン)

→ 神経伝達物質の維持、
神経細胞保護
進行を遅らせる

アミロイド（カスケード）仮説



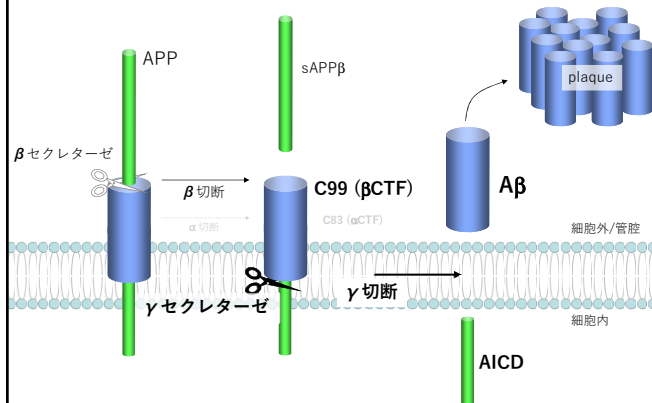
アルツハイマー病根本治療に向けて

抗アミロイド根本治療法（研究中）

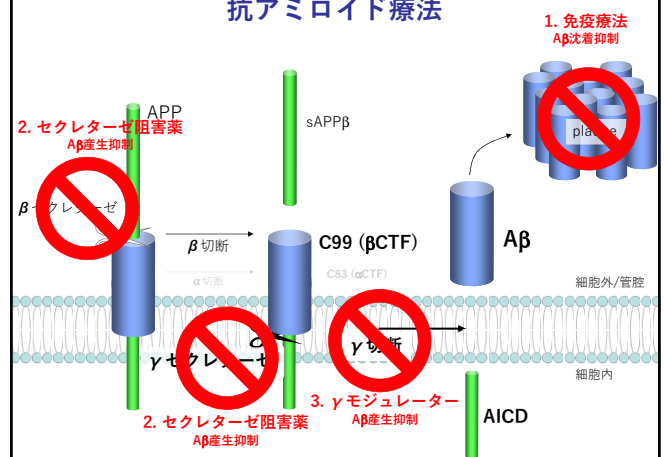
1. 抗Aβ免疫療法
2. セクレターゼ阻害剤（ β / γ セクレターゼ阻害剤）
3. γ モジュレーター（A β 42産生抑制）
4. 基質標的型切断阻害

→ A β 産生阻害、A β 除去
発症阻止／進行を遅らせる

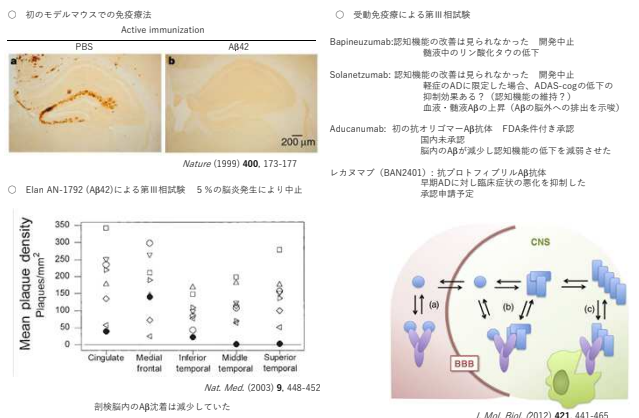
アミロイド β 産生機序；APPからA β が産生される



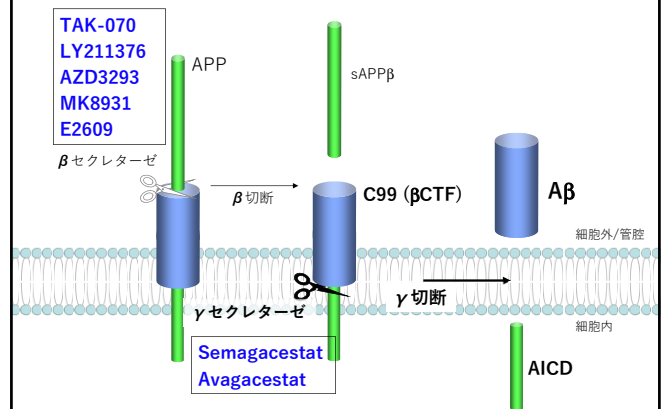
抗アミロイド療法



1. 免疫療法



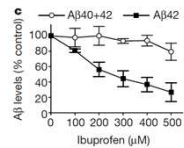
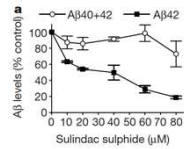
2. セクレターゼ阻害薬



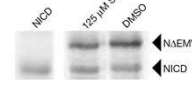
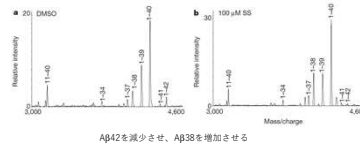
3. γ モジュレーター

A subset of NSAIDs lower amyloidogenic A β 42 independently of cyclooxygenase activity

Sascha Wiegman¹, Jonas L. Eriksson¹, Pritam Das¹, Sarah A. Segal¹, Kang Wang¹, Claus H. Pitschke¹, Kirk A. Hurlburt¹, Tamara E. Smith¹, Michael P. Murphy¹, Thomas Butler¹, David S. Koo¹, Numa Marquet-Sterling¹, Todd E. Golde¹ & Edward M. Koo¹



Nature (2001) 414, 212-216



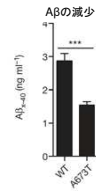
Notch切断には影響しない

しかし、その後いくつかの γ モジュレーターが開発されたが、臨床試験で多くが失敗に終わった。

抗アミロイド療法の失敗は、アミロイド仮説を揺るがしたが、、、

アミロイド仮説

多くの家族性AD変異の発見



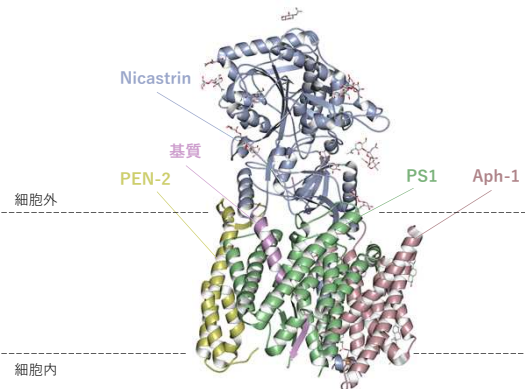
A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline

Thorsteinn Jonsson¹, Jostein K. Atwal¹, Stacy Steinberg¹, Jon Stenlund¹, Pålmi V. Jonsson^{1,2}, Signhildur Bjornsson¹, Britton Schmeissner¹, Patrick Schmeissner¹, Daniel Gudnason¹, Janice Makarewicz¹, Awanne Bayart¹, Amy Gustafson¹, Xichun Liu¹, Yumei Lu¹, Tushar Bhargava¹, Robert R. Graham¹, Johanna Huttenlocher^{1,3}, Cylla Bjornsdottir¹, Ole A. Andreassen^{1,4}, Erik C. Jonsson¹, Aaron Plonik¹, Timothy W. Behrman¹, Chahar T. Magnusson¹, Augustine Song¹, Ulfar Thorsteinnsson^{1,5}, Ryan J. Watts¹ & Karl Stefansson^{1,6}

A β 産生を低下しAD発症を抑える変異の発見！！

4. 基質標的型切断阻害

γ セクレターゼ：4つの膜タンパク質複合体



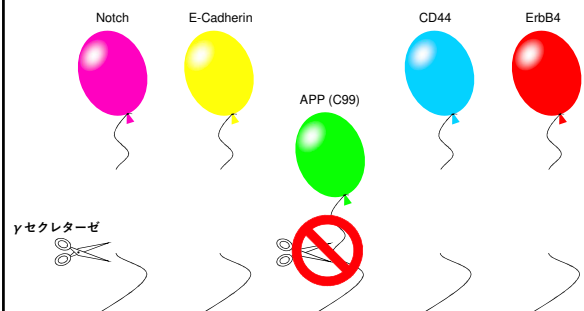
Zhou et al., Science, 2019 Feb 15;363(6428):eaaw0930より改題

γ セクレターゼには多くの基質が存在する

APP	...FAEDVGSNGAIIIGLMVGGVVIATVIVITLVMLKKQYTSIH...
APLP1	...APAGTGVSRREAVSGLLIMGAGGSLIVLSMLLRKKPYGAI...
APLP2	...LREDFSLSSALIGLLVIAVAIATVIVISLVMLRKRQYGTIS...
Notch1	...TVEPPPPAQLHFMVAAAFAVLLFFVGGVLLSRKRRRQHGQ...
Jagged2	...VTGSSSTGLLVPLCGAFSVLWLVACVLCVWVTRKRRKERER...
Delta1	...EGQGPPFPWVAVCAGVILVLMLLGCAAVVVCVRLRLQKHP...
E-cadherin	...QPVEAGLQIPAILGILGGILALLILILLLLFLRRRAVVKEP...
N-cadherin	...RIVAGLGTGAIITALLCIITILLILVLMFVVMKRRDKERQA...
CD44	...TSGPIRTQPIPEWLIILASLLALALILAVCIANVSRRCQGK...
ErbB4	...TLPQHARTPLIAGVIGGLFILVIGLTFVAVVRRKSIKKR...
LRP1	...VFSQQQPGHIASILIPLLLLLLVVLVGVVFVYKRRVQGAQ...

γ セクレターゼ活性の低下は、重要な機能をもつ分子切断をも低下させ副作用を引き起こす。 β セクレターゼにも多くの基質が存在し、活性低下は副作用をもたらす。

γ セクレターゼには多くの種類の基質が存在する



APP特異的 γ セクレターゼ活性抑制を実現させるには？

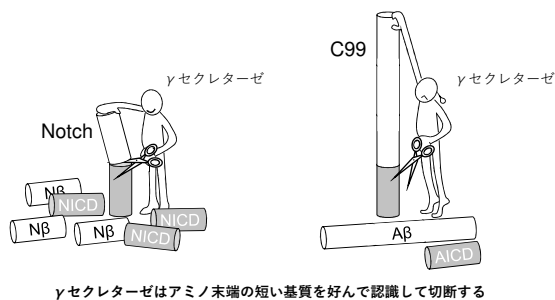
4. 基質標的型切断阻害

基質特異的 γ セクレターゼ活性阻害のために

γ セクレターゼの基質認識機構の解明

- 基質選択性はあるか？
- どのように基質を認識しているのか？

γ セクレターゼの基質認識モデル

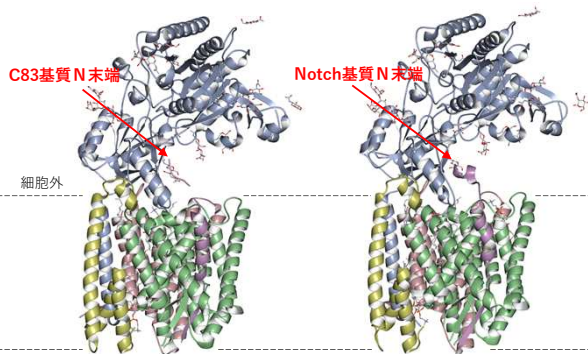


γ セクレターゼはアミノ末端の短い基質を好んで認識して切断する

↓
基質のN末端側を認識する

Nat. Commun. 2013 Oct 9;4:2529. doi: 10.1038/ncomms3529.

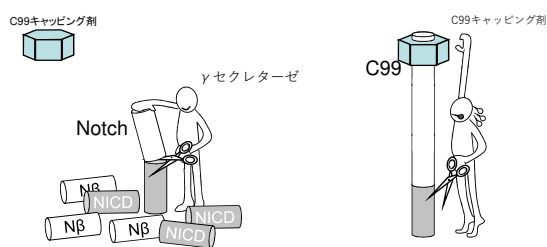
γ セクレターゼと基質の構造解析



γ セクレターゼは基質分子のアミノ末端を内部に取り込んでいる。

Zhou et al., *Science*, 2019 Feb 15;363(6428):eaaw0930.より改題
Yang et al., *Nature*, 565, 132-137 (2019).より改題

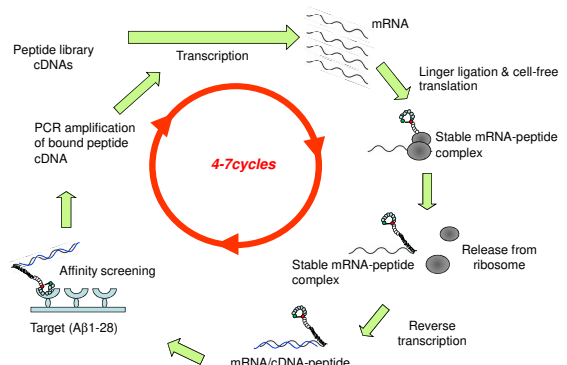
C99キャッピングによる特異的切断抑制



C99のN末端側に特異的に結合するキャッピング剤によりC99特異的に切断を抑制することは可能か？

Nat. Commun. 2013 Oct 9;4:2529. doi: 10.1038/ncomms3529.

ペプチドディスプレイ法によるC99結合ペプチドのスクリーニング



Peptidream Inc.との共同研究

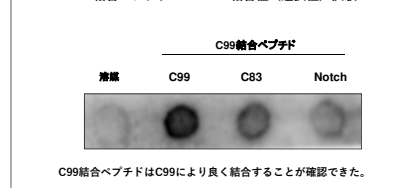
Nat. Commun. 2013 Oct 9;4:2529. doi: 10.1038/ncomms3529.

C99結合ペプチド

C99結合ペプチド: **MHLVICDCYCTTDICCYCSCTPN**

KD, 2.6 μ M (C99)

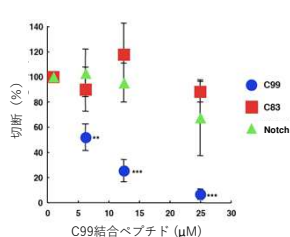
C99結合ペプチドのC99への結合性（選択性）試験



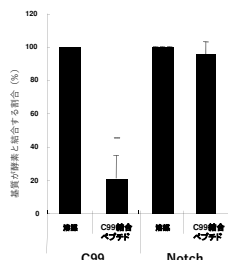
C99結合ペプチドはC99により良く結合することが確認できた。

特許 6168998号
Funamoto et al., *Nat. Commun.* (2013)

C99結合ペプチドによるC99選択的切断抑制



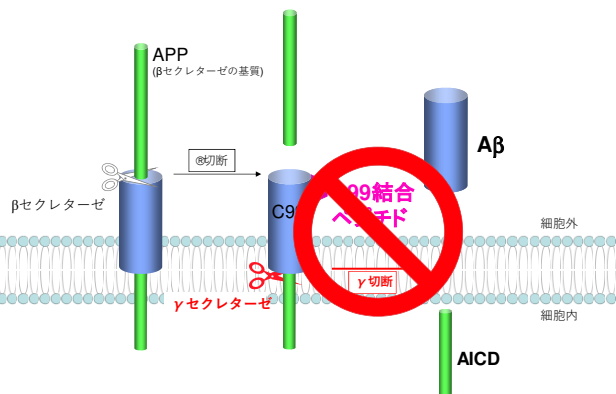
C99選択的に切断を抑制



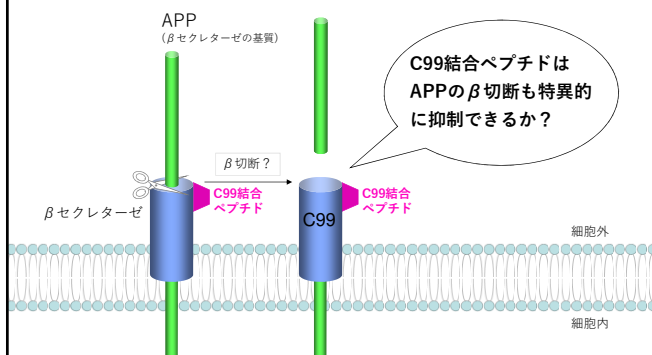
C99選択的にγセクレターゼとの相互作用を抑制

特許 6168998号
Funamoto et al., Nat. Commun. (2013)

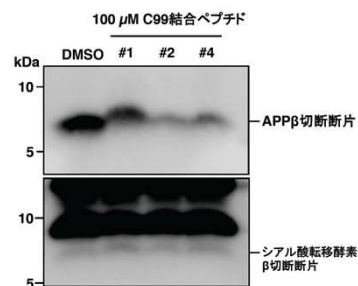
C99結合ペプチドはC99(APP)特異的にγ切断を抑制する



C99結合ペプチドはAPPにも結合する



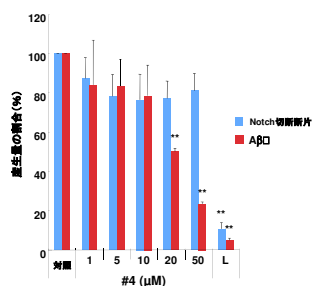
C99結合ペプチドはAPP特異的にβ切断も抑制する



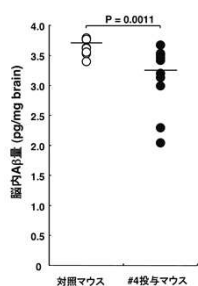
C99結合ペプチドはAPPのβ切断によるAPPβ産生量が減少したが、シアル酸転移酵素のβ切断断片量には影響を与えなかった。

特許 6168998号
Funamoto et al., Nat. Commun. (2013)

C99結合ペプチドは培養細胞やマウスでもAβ産生を抑制する



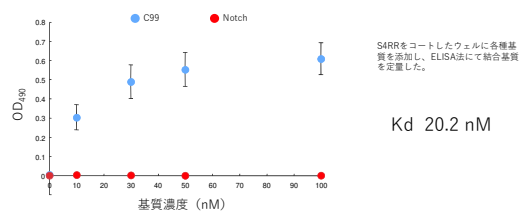
培養細胞のAβ量が減少した。



脳内Aβ量が減少した。

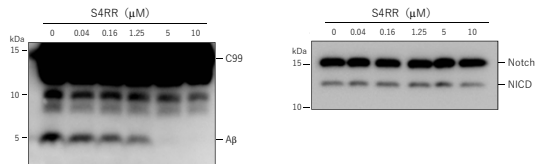
新規C99結合ペプチド S4RR

名称: S4RR
鎖長: 13アミノ酸
特徴: 末端修飾と非天然アミノ酸を含む
親和性と特異性:



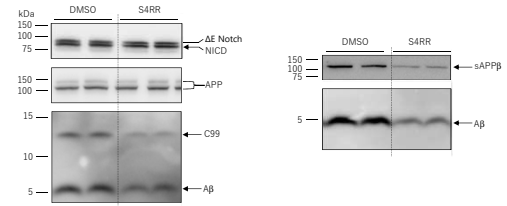
国際公開 WO2020/040106

S4RRによるC99特異的切断抑制



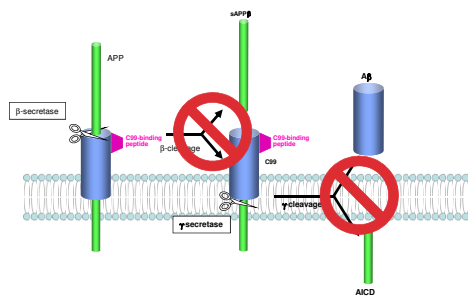
In vitro γ セクレターゼ アッセイにおいて、S4RRは濃度依存的にC99切断 ($A\beta$ 産生) を抑制する ($IC_{50} = 1.02 \mu M$)。S4RRはNotch切断には干渉しない。

培養細胞におけるS4RRのAPP (C99) 特異的切断抑制



APPと ΔE Notchを過剰発現するCHO細胞にS4RRを添加し (終濃度 $10 \mu M$)、48時間後に細胞と培養上清を回収し、 $A\beta$ 産生量等を検討した。S4RRはNotch切断には干渉せず、APPからのsAPP β 、C99、 $A\beta$ 産生を抑制し、基質選択性を示した。

S4RRの一石二鳥的効果

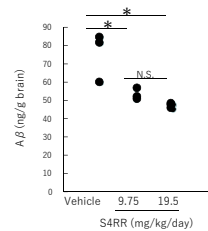


C99アミノ末端をブロックすると、APP特異的に β 切断と γ 切断を抑制することができる。

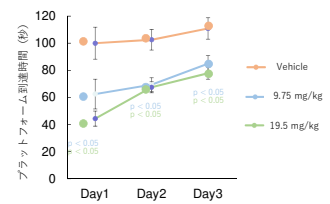
Nat. Commun. 2013 Oct 9;4:2529. doi: 10.1038/ncomms3529.

S4RR経鼻投与による効果

S4RR投与による $A\beta$ 量低下



S4RR投与による認知機能低下の抑制



5週齢のAPPノックインマウスにS4RRを週3回経鼻投与し、10週間後の脳内 (塩酸グアニジン可溶化分画) $A\beta$ 量をウェスタンブロット法にて定量した ($n = 3$)

S4RRを43週継続投与したAPPノックインマウスについて、モリス水迷路反転試験で投与群で改善傾向を示した。

本シリーズの特徴と優位性

- 1 APP (C99) を標的としているため、酵素活性に干渉することなく他の分子切断を温存させる。
- 2 γ 切断のみならず β 切断もAPP特異的に抑制し、 $A\beta$ 産生を抑制する。
- 3 経鼻投与で認知機能低下に効果が期待できる。

今後の課題

1. S4RRの脳移行
脳移行性の検討
2. S4RRの最適化
短鎖化・修飾等で脳移行性の向上
3. モデル動物における基質特異性の検討
Notch他の分子切断への影響
4. S4RRの体内動態試験
企業との連携を希望
5. S4RRの毒性試験
企業との連携を希望